

蜀柏毒蛾生殖行为及性信息素产生与释放节律

张坤胜¹, 杨 伟^{1,*}, 卓志航¹, 邓忠彬¹, 杨春平¹, 杨 桦¹,
周建华², 肖银波², 贾玉珍²

(1. 四川农业大学林学院, 四川省林业生态工程省级重点实验室, 四川雅安 625014; 2. 四川省林业科学研究院, 成都 610081)

摘要: 为了探索蜀柏毒蛾 *Parocneria orienta* Chao 性信息素产生和释放规律, 为利用性信息素监测和防治蜀柏毒蛾奠定基础, 本研究在野外及室内温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相对湿度 75% ~ 80%、光周期 14L:10D 条件下观察研究了蜀柏毒蛾成虫的羽化、求偶、交尾、产卵行为, 触角电位反应测定处女雌性性信息素产生与释放的时辰节律。结果表明: 蜀柏毒蛾羽化行为全天可见, 主要集中在 1:00–5:00, 占总羽化量的 44.94%, 7:30–11:00 进行婚飞和交尾, 交尾高峰期出现在 8:30 左右, 交配时间少则 2 h, 多则 8 h, 求偶、交配均发生在光期。随着日龄的增加, 召唤时间前移并且延长, 1 日龄的处女雌蛾交尾时间较短; 雌蛾羽化当天就可交尾, 2 日龄雌蛾交尾率最高, 达 36.67%。雌蛾分多处产卵, 雌蛾一生最高产卵量达 402 粒, 最低产卵量为 78 粒。羽化当天的雌蛾体内性信息素含量较低, 第 2 天最高, 以后逐日下降; 2 日龄蜀柏毒蛾处女雌性性信息素的产生量从 7:00 起逐渐增加, 8:30–9:30 时最高, 9:30 后逐渐减小。雄蛾对处女雌蛾腺体提取物的触角电位反应在 8:30–9:00 最强, 说明 8:30–9:00 是雌蛾产生和释放性信息素的高峰期。蜀柏毒蛾的羽化、求偶、交尾及性信息素的产生与释放存在一定的时辰节律, 野外处女雌蛾诱蛾试验证实了性信息素释放与交配行为在时辰节律上的一致性。

关键词: 蜀柏毒蛾; 生殖行为; 羽化; 交尾; 性信息素; 时辰节律

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2012)01-0046-09

Reproduction behavior and circadian rhythm of sex pheromone production and release in *Parocneria orienta* (Lepidoptera: Lymantriidae)

ZHANG Kun-Sheng¹, YANG Wei^{1,*}, ZHUO Zhi-Hang¹, DENG Zhong-Bin¹, YANG Chun-Ping¹, YANG Hua¹, ZHOU Jian-Hua², XIAO Yin-Bo², JIA Yu-Zhen² (1. Key Laboratory of Ecological Forestry Engineering of Sichuan Province, College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2. Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081, China)

Abstract: In order to explore the rhythm of sex production and release of *Parocneria orienta* Chao, to establish the basis for using sex pheromone to monitor and control the pest, the emergence, calling, mating and oviposition behaviors of *P. orienta* were studied through observations in the fields and in the laboratory under the conditions of $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 75%–80% RH and 14L:10D photoperiod. The circadian rhythm of sex pheromone production and release in *P. orienta* were studied by determining the electroantennogram (EAG) response. The results showed that the emergence of *P. orienta* happened during the day, especially from 1:00 to 5:00, accounting for 44.94% of the total. The nuptial flight and mating behaviors took place from 7:30 to 11:00. The peak of mating occurred at 8:30 or so. The calling and mating behaviors were both observed during the photophase. Calling time varied with the age of female, with older (2- to 3-day-old) virgin females calling later and longer calling duration than younger (1-day-old) females. The 1-day-old female had shorter lasting time of mating. The mating rate of 2-day-old females was the highest (36.67%). The maximum oviposition in the whole life of a female was up to 402 eggs, and the minimum was 78 eggs. The amount of pheromone in the gland was relatively low at 1 d after emergence, with a peak at 2 d after emergence, and then decreased gradually day by day. The

基金项目: 四川农业大学“211 工程”双支计划资助项目(00370101); 四川农业大学长江上游生态林业工程建设资助项目; 林业公益性行业科研专项(201004003-6)

作者简介: 张坤胜, 男, 1986 年生, 广西防城港人, 硕士研究生, 从事森林病虫害防治, E-mail: zhangkunsheng@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: ywei0218@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2011-07-29; 接受日期 Accepted: 2011-11-21

amount of pheromone of 2-day-old virgin females began to increase gradually post 7:00, with the peak between 8:30 and 9:30, and then decreased gradually post 9:30. EAG response was the strongest from 8:30 to 9:00. The peak of sex pheromone production and release of *P. orientalis* occurred between 8:30 and 9:00. There was a circadian rhythm in the emergence, calling and mating, and the sex production and release of adults. The sex pheromone release and mating behavior of *P. orientalis* were synchronized, which was confirmed in field tests by using virgin females to trap males.

Key words: *Parocneria orientalis*; reproductive behavior; emergence; mating; sex pheromone; circadian rhythm

蜀柏毒蛾 *Parocneria orientalis* Chao 属鳞翅目 (Lepidoptera) 毒蛾科 (Lymantriidae) 柏毒蛾属 *Parocneria*, 俗名柏毛虫, 广泛分布在四川盆地周围丘陵和山区的柏木林区, 重庆、贵州、湖南、福建有少许分布, 主要为害柏木 *Cupressus funebris* Endl., 食物缺乏时也为害侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco、桧柏 *Juniperus chinensis* L.、墨西哥柏 *Cupressus lusitanica* Mill、千头柏 *Platycladus orientalis* cv. *sieboldii* 等柏科植物 (文亮等, 2009)。近年来蜀柏毒蛾对四川、重庆的柏木资源为害日益严重, 已经上升为四川省柏科植物第一大食叶害虫, 每年发生面积达 66 万 hm^2 (冯波等, 2009), 不仅造成重大的经济损失, 还严重影响了长江上游的生态屏障建设。

关于蜀柏毒蛾的研究以往主要针对其生物学特性和防治方法 (何礼, 1998; 兰林等, 2009)。近年来, 应用 BT 乳剂和蜀柏毒蛾核型多角体病毒 (*Parocneria orientalis* nuclear polyhedrosis virus, PoNPV) 进行防治虽取得了一定的效果, 但 BT 乳剂的防治效果受天气影响较大, 要求较高的空气湿度, PoNPV 的产量有限 (文亮等, 2009), 难以广泛应用。因此, 生产实践中仍缺乏简便有效的监测和防治蜀柏毒蛾的无公害技术和方法。

应用昆虫性信息素监测害虫发生和消长情况, 具有灵敏度高、准确性好、操作简便、高效经济、无毒、不杀伤天敌等特点, 在世界各国已得到普遍承认。到目前已鉴定和合成了 1 000 多种害虫的性诱剂 (温秀军等, 2009), 其中有些已在测报和防治上大面积推广应用。为了探索蜀柏毒蛾监测和防治的新方法和新途径, 本试验通过对蜀柏毒蛾羽化和交尾行为的系统观察, 同时采用触角电位技术测定性信息素活性和林间处女雌蛾诱蛾试验对蜀柏毒蛾性信息素产生和释放的动态节律进行研究, 了解蜀柏毒蛾成虫的生殖行为和性信息素生物学, 为利用性信息素进行蜀柏毒蛾的种群监测和无公害防治提

供可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

供试蜀柏毒蛾 *P. orientalis* 老熟幼虫采自四川省遂宁市射洪县太兴乡井田弯, 带回室内饲养于温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相对湿度 75%~80%、光周期 14L:10D 的人工智能气候箱内, 以寄主植物柏木枝叶饲喂, 至老熟幼虫化蛹, 待其羽化。羽化后按性别和虫龄 (羽化后 0~24 h 视为 1 日龄, 以此类推) 将其分别置于纱笼 (30 cm×30 cm×50 cm), 以 10% 蔗糖水喂食, 每天更换。

1.2 蜀柏毒蛾羽化行为节律观察

室内从观察到第 1 头成虫羽化开始, 每天 1:00~5:00 和 9:00~11:00 每隔 1 h, 其余时间每隔 2 h 观察记录一次羽化情况并移出羽化的蜀柏毒蛾, 直到所有的蜀柏毒蛾羽化完毕, 试验重复 3 次, 共计观察蛹 960 个。

1.3 蜀柏毒蛾求偶行为观察

将 30 头刚羽化的雌蛾分别放入 450 mL 的广口瓶中 (每瓶 1 头)。瓶内放置浸有 10% 蔗糖水的脱脂棉球供其取食, 棉球每天更换一次。在光期 1 h 后每隔 0.5 h 观察一次求偶行为 (预试验发现蜀柏毒蛾只在光期求偶), 直到所有的雌蛾停止求偶或死亡。判断雌蛾是否求偶的标准是雌蛾间断或连续伸出产卵器, 并稍微振动双翅。

1.4 蜀柏毒蛾交尾行为及其动态节律

将当日羽化的雌雄成虫 20 对置于同一纱笼 (30 cm×30 cm×50 cm) 中, 以 10% 蔗糖水饲喂, 观察其交配行为。观察时间为 6:00~18:00 (预试验发现暗期成虫没有交尾行为), 每隔 30 min 观察一次, 每次观察记录此时段交尾的对数, 以及每对成虫交尾开始和结束的时间。待交尾结束后, 将雌、雄虫分别放入另一装有未交尾的异性成虫纱笼中,

观察有无二次交尾现象,如有,再将二次交尾后的雌、雄虫分别放入另一装有未交尾异性成虫纱笼中,观察其有无再次交尾现象,余类推。从羽化当天一直观察到成虫死亡。试验重复3次。

1.5 蜀柏毒蛾生殖行为野外观察

野外观察在四川省遂宁市射洪县太兴乡井田弯柏木林中进行,2011年5月25日到6月10日每天5:00–13:00固定观察25棵受害柏木上蜀柏毒蛾成虫的交配行为及产卵情况。

1.6 性信息素产生与释放节律测定

1.6.1 腺体提取:在实体镜下用手轻轻挤压供试雌蛾腹部,迫使其伸出性信息素腺体,用手术剪将位于雌蛾尾尖第8腹节和第9腹节之间的节间膜腺体剪下,置于滤纸上,压挤除去体液,放入采样瓶(内径5 mm、长2.5 cm)中,用重蒸正己烷提取40 min,提取液经 N_2 浓缩至1 mL后转移到另一洁净采样瓶中,–25℃保存待用。

1.6.2 性信息素的产生与蛾龄的关系:分别取1–6日龄处女雌蛾10头,于8:30(处于召唤状态)摘取腺体,用重蒸正己烷提取性信息素粗提物,测定雄蛾对各日龄雌蛾性信息素粗提物的EAG反应。试验浓度为1 FE/20 μ L,以重蒸正己烷为对照进行EAG反应。

1.6.3 雌性性信息素的产生和释放时辰节律:取2日龄(性信息素产生的高峰期)的处女雌蛾132头,于7:00, 8:00, 8:30, 9:00, 9:30, 10:00, 11:00, 12:00, 15:00, 17:00, 19:00和21:00各取10头摘取腺体(方法见1.6.1)用重蒸正己烷提取性信息素,同时取1头雌蛾采用动态吸附法收集(方法见1.6.5)其释放的性信息素,然后测定雄蛾对不同时间提取和吸附法收集的性信息素的EAG反应。试验浓度为1 FE/20 μ L,以重蒸正己烷为对照进行EAG测试。

1.6.4 性信息素的剂量反应曲线的确定:参照杨红美等(2010)确定榆木蠹蛾 *Holcocerus vicarius* (Walker)性信息素剂量反应曲线的方法,取15头2日龄处女雌蛾于8:30(处于召唤状态)摘取腺体,提取性信息素进行剂量反应试验。

1.6.5 性信息素的吸附采集:采用北京劳动保护研究所生产的Qc-I型大气采集仪,采样管内担体为100 mg预处理后的Tenax-TA,所用采样瓶为25 mL的锥形瓶。于7:00, 8:00, 8:30, 9:00, 9:30, 10:00, 11:00, 12:00, 15:00, 17:00, 19:00和21:00各取1头2日龄的处女雌蛾放进采样瓶内,

然后用橡胶塞(橡胶塞是旧的,在热水中泡了片刻之后又用正己烷浸泡了一段时间,在实验时还用美国进口的保鲜膜包裹了一层)塞住瓶口,形成密闭的环境。胶塞上有两个玻璃支管,将大气采集仪进出口两端的接管连接到采样瓶橡胶塞上的2个玻璃支管上。先将袋内的空气用大气采集仪排空,再送入同样量的经过活性炭过滤的新鲜空气。然后在进气管端加上吸附管,进行挥发物样品的采集。抽气时间为40 min,流量为0.5 L/min。采集后的吸附剂管立即用铝箔封堵两端,然后再用Parafilm膜封严。用重蒸正己烷洗脱吸附管,洗脱液存放于密封性极高的2 mL进口采样瓶,作好标记置于–25℃的低温冰箱保存,备用。

1.6.6 触角电位(electroantennogram, EAG)试验:使用Syntech生产的触角电位仪,包括:SyntechUN-06直流/交流放大器;Syntech CS-05刺激放大器;Syntech MP-15微动操作仪;Syntech WILD, M3Z双目实体显微镜;Syntech分析软件。连续气体流量为124 mL/min;刺激气体流量为20 mL/min,刺激时间为0.1 s,刺激间隔为40~60 s。

测定时用眼科剪刀将2日龄且未交配的雄蛾触角自基部2 mm处剪下,切除末端1 mm,用电极胶(Beta 360 Elect Rode Gel)将其横接在两个电极上,使电路形成通路。样品滴在4 mm×30 mm的对折滤纸条上,装入样品管中。刺激顺序是从低浓度到高浓度,为了消除触角适应而导致的偏差,每测定一样品,前后都进行相应的空白测定,以20 μ L正己烷为空白对照,取两对照的平均值作为该样品的对照值,每次测定值减去空白,得到触角电位刺激物的净反应值。每个处理在同一根触角上重复测定3次,连续测定6根触角,每头雄蛾只取用1根触角。

1.7 蜀柏毒蛾处女雌蛾的野外诱蛾试验

采用PVC板制成中空等边三棱形诱捕器,诱捕器的底面涂粘虫胶,诱芯用细铁丝穿上从诱捕器上棱中间垂下,距粘胶面约4.0 cm左右。诱捕器外面用涂料涂成白色。将同一日龄的蜀柏毒蛾5头处女雌蛾放入小纱笼中,并将其悬挂于诱捕器内,距胶面2 cm。设置5个重复,以无雌蛾诱捕器为对照。试验在遂宁市射洪县太兴乡井田弯柏木林中进行,将诱捕器以20 m间隔随机悬挂在距地面3 m的柏树枝上,每天5:00–14:00每小时记录一次诱集的蜀柏毒蛾雄蛾数量。

1.8 数据处理与分析

数据采用 SPSS 17.0 软件进行处理分析, 成虫的羽化行为、交配行为、性信息素产生与释放节律测定实验的数据均采用 Duncan 氏新复极差法进行显著性检验, 图表在 Excel 2007 上完成。

2 结果与分析

2.1 蜀柏毒蛾羽化行为及其动态节律

初化蛹呈淡绿色, 渐变为深绿色, 随着翅的形成在羽化前蛹的头部变为黑褐色, 腹部变为黑绿色。羽化前, 不断扭动腹部, 待头部蛹壳开裂, 成虫从蛹壳脱出。头部若不是先出蛹壳, 该虫不能正

常羽化。成虫刚羽化时双翅潮湿且折叠, 微向腹弯曲, 翅面呈皱缩状, 整个背外露, 随后翅慢慢展开, 双翅合拢成屋脊状立于背上, 再经过大约 5 ~ 10 min 后将翅水平放下, 羽化完成, 羽化历时 12 ~ 18 min。羽化行为全天可见, 主要集中在 1:00 ~ 5:00 (图 1), 其羽化数量占日羽化量的 44.94%, 极显著高于其他时段 ($P < 0.01$)。成虫羽化后并不马上活动, 30 ~ 60 min 后才开始向四处爬动, 其间常伴随从尾部喷出一股黄褐色的液体, 雌雄均有此现象。成虫早上活动较活跃, 下午大多潜伏在树枝背面或树干上, 不甚活动, 夜间雌蛾对光的敏感度远远高于雄蛾, 雌蛾具有较强的趋光性。

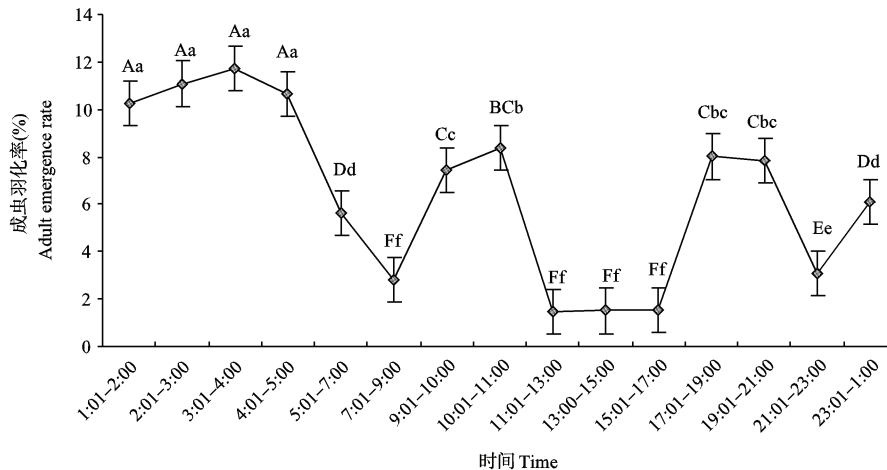


图 1 蜀柏毒蛾室内羽化的昼夜节律

Fig. 1 Circadian rhythm of emergence of *Parocneria orientalis* in the laboratory

数据(平均值 \pm SD)上方不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$); 下同。Data (means \pm SD) in the figure with different small letters above are significantly different ($P < 0.05$), while those with different capital letters are extremely significantly different ($P < 0.01$). The same below.

2.2 蜀柏毒蛾的求偶行为

求偶是昆虫进入性成熟后的一种自发性行为。野外蜀柏毒蛾羽化后当天就可以交尾, 7:30 ~ 11:00 进行婚飞和交尾, 交尾高峰期出现在 8:30 左右, 暗期未见交尾, 野外成虫交尾多在 2 ~ 3 m 高的树干或树枝上。蜀柏毒蛾雌雄虫的求偶过程均可以分为 3 个连续阶段: (1) 在进入光期约 1 h 后, 雌雄蛾都由静止转向四处爬动, 触角前伸且稍有摆动, 翅膀不断轻微振动。(2) 爬动片刻后, 雌雄蛾翅膀开始高频振动。雌蛾翅膀向水平方向或向上举起且微微拍动, 腹部末端上扬, 同时露出土黄色产卵器及腺体, 性信息素腺体逐渐由瘪皱到饱满, 由不透明到半透明, 最后呈乳白色的半球状体, 顶端有液滴透出; 雄蛾腹部则间歇性向前弯曲。(3) 雌

蛾产卵器继续外伸, 最终呈 90°角弯向腹面, 且翅膀不断振动, 若无其他干扰或无雄虫交配, 雌虫可较长时间保持此姿态; 雄蛾表现为高度兴奋, 围绕雌虫不断转动, 抱握器张开, 阴茎伸出, 试图与雌虫进行交配。

从表 1 可以看出, 蜀柏毒蛾羽化后第 1 天就发生求偶行为, 1, 2 和 3 日龄的雌蛾求偶高峰期在 8:30 左右, 而 4, 5 和 6 日龄的求偶高峰期在 8:00 左右。羽化第 2 天发生求偶行为的虫数最多, 第 3 天后开始逐渐下降, 随着虫龄的增加, 求偶时间也逐渐提前, 具体时间如表 2 召唤时间栏所述。

2.3 蜀柏毒蛾成虫交配行为及动态节律

成虫求偶行为进入第 3 个阶段后, 被雌蛾释放性信息素引诱的雄蛾高度兴奋, 剧烈振翅, 围绕雌蛾旋转, 不断用触角触碰雌蛾已外伸的伪产卵器。

然后爬行到雌蛾身侧，将腹部末端伸向雌蛾腹部末端，雄蛾抱握器一旦夹住雌蛾，立即转身与雌蛾交配，交配时雌、雄蛾多数呈 180°角，也有呈 120°角的，交配时间持续 2~8 h 不等。交尾时雌雄虫均静止不动。室内试验发现人为将正在交尾的雌雄虫移

动不会干扰其交尾的进行，交尾结束后，雌雄虫并没有马上分开，大概过了 30 min 雄虫飞离交配场所，雌蛾仍停留在原地或近距离爬行，雌蛾交尾后变得不活跃，室内观察到雄虫有多次交配的现象，而雌虫未观察到有二次交配现象。

表 1 蜀柏毒蛾雌蛾羽化后不同时间的求偶虫数

Table 1 Number of calling females of *Parocneria orientalis* at different days after emergence

光期 Photophase	求偶虫数 Number of calling females					
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d
L0 - 2	3	4	5	7	6	4
L2 - 4	9	16	12	4	3	3
L4 - 6	5	4	3	3	1	2
L6 - 8	0	2	2	1	1	1
L8 - 10	0	1	1	1	1	1
L10 - 12	0	0	0	0	1	1
L12 - D	0	0	0	0	0	0

室内蜀柏毒蛾交配发生在 7:30 - 11:00，交配高峰期在 8:30 左右(图 2)。由表 2 可以看出，室内当天羽化的成虫即可交尾，但交尾率显著低于 2 日龄($P < 0.05$)，与 3 日龄差异不显著($P > 0.05$)。虽然雌雄在羽化当天就有交尾能力，但交尾能力最强的是 2 日龄雌蛾，未交尾的 2, 3, 4, 5 和 6 日龄雌蛾召唤时间早于 1 日龄雌蛾，且召唤时间较长。交配时间随日龄的增加逐渐增长，2 和 3 日龄的交配时间差异不显著($P > 0.05$)，5 日龄的交配时间最长，且极显著长于其他日龄($P < 0.01$)，6 日龄后不再有交配能力，成虫开始死亡。

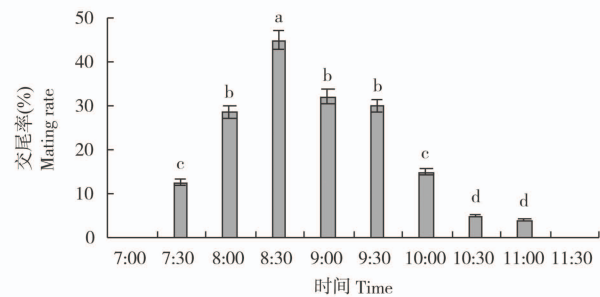


图 2 蜀柏毒蛾室内不同时间的交尾率

Fig. 2 Mating rate of *Parocneria orientalis* in the laboratory at different time

表 2 不同日龄蜀柏毒蛾交尾行为观察

Table 2 Observation of mating of *Parocneria orientalis* at different age in the laboratory

日龄 Day-old	召唤时间 Calling time	交尾率 (%) Mating rate	平均交配持续时间(h) Average lasting time of mating
1	7:30 - 12:00	24.67 ± 0.58 Bb	2.25 ± 0.50 Dd
2	7:20 - 15:00	36.67 ± 1.04 Aa	4.67 ± 0.58 Cc
3	7:15 - 15:45	25.33 ± 0.89 Bb	5.17 ± 0.76 Cc
4	7:09 - 16:00	11.67 ± 1.00 Cc	6.67 ± 0.57 Bb
5	7:05 - 16:42	1.66 ± 0.57 Dd	8.58 ± 0.50 Aa
6	7:00 - 17:30	0 Ee	0 Ee

表中数据为平均值 ± SD，同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)，不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)；下同。Data in the table are means ± SD. Data in a column with different small letters are significantly different ($P < 0.05$), while those with different capital letters are extremely significantly different ($P < 0.01$). The same below.

2.4 蜀柏毒蛾的产卵行为

雌雄蛾交尾结束后，雌蛾静伏 1~2 h 后，开始

产卵，林间调查发现，卵多产于鳞叶上及树枝、树干缝隙内，且先从树干基部开始，逐渐往上，在树

干及树枝的不同位置将卵分堆产下; 在室内小纱笼中, 雌蛾将卵产在纱网的缝隙处, 且多处产卵, 卵呈不规则块状, 淡绿色至墨绿色, 雌蛾一生最高产卵量可达 402 粒, 最低为 78 粒。

2.5 蜀柏毒蛾性信息素的产生与释放节律

2.5.1 性信息素的产生与雌蛾龄的关系: 由图 3 可知, 羽化当天的蜀柏毒蛾雌蛾的性信息素的含量较低, 2 日龄的含量最高, 显著高于其他日龄 ($P < 0.05$), 以后逐日下降, 6 日龄未检出性信息素, 由此可见日龄对蜀柏毒蛾性信息素含量的影响很大。

2.5.2 蜀柏毒蛾雌蛾性信息素的产生和释放时辰节律: 从图 4 可以看出, 蜀柏毒蛾雌蛾性信息素的产生量从 7:00 起逐渐增加, 9:30 后逐渐下降, 8:30 – 9:30 时最高, 显著高于其他时刻 ($P < 0.05$), 8:30, 9:00 和 9:30 间无显著差异。用吸附法收集处女雌蛾的性信息素进行触角电位测定, 雄虫的 EAG 反应在 8:30 和 9:00 最强, 8:00, 9:30

和 10:00 也有较高的释放量, 说明 8:00 – 10:00 是雌蛾产生和释放性信息素的高峰期。

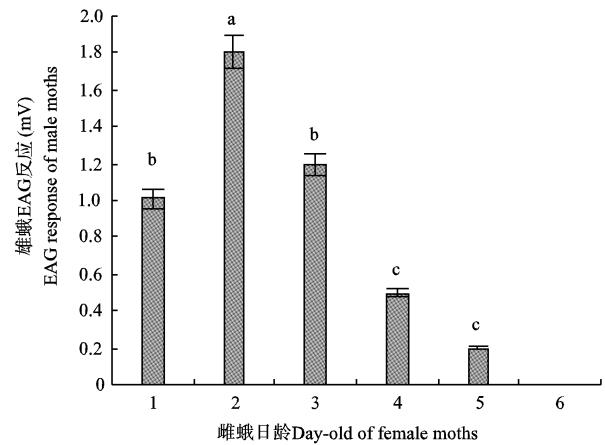


图 3 蜀柏毒蛾雄蛾对不同日龄处女雌蛾腺体粗提物的 EAG 反应

Fig. 3 The EAG response of the male *Parocneria orientalis* to crude extract of female glands at different age

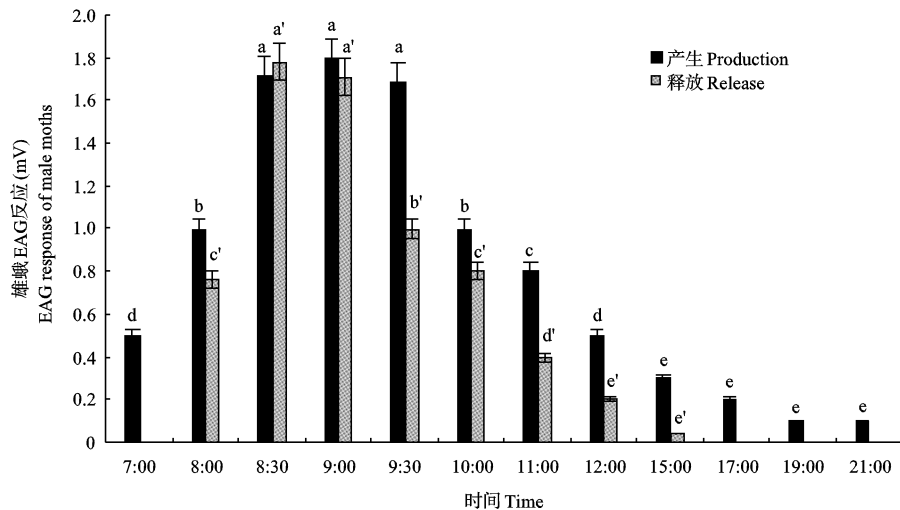


图 4 蜀柏毒蛾 2 日龄处女雌蛾性信息素的产生与释放节律

Fig. 4 Circadian rhythm of the sex pheromone production and release by 2-day-old virgin females of *Parocneria orientalis*

2.5.3 雄蛾对性信息素提取物的 EAG 反应: 从图 5 可以看出, 2 日龄雄蛾对 2 日龄处女雌蛾性信息素反应的起始浓度为 10^{-4} FE/20 μ L, 但反应值很小, 对 10^{-2} FE/20 μ L、 10^{-1} FE/20 μ L 反应较明显, 而反应值仍较小, 1 FE/20 μ L 的反应值显著大于 10^{-1} FE/20 μ L 的反应值 ($P < 0.05$), 10 FE/20 μ L 反应值最大, 但和 1 FE/20 μ L 的反应值差异不显著 ($P > 0.05$), 说明 1 FE 已经达到饱和阈值, 因此本试验以 1 FE/20 μ L 为性信息素提取物标准刺激浓度。

2.6 蜀柏毒蛾处女雌蛾林间诱蛾试验

林间诱蛾试验结果表明, 2 日龄处女雌蛾诱蛾数量极显著高于 1 日龄和 3 日龄 ($P < 0.01$), 4 日龄的雌蛾诱蛾活性极显著降低 ($P < 0.01$), 5 和 6 日龄雌蛾基本没有诱蛾活性了 (表 3), 这与上文不同日龄雌蛾性信息素含量变化规律相吻合。由表 4 可知, 同日龄处女雌蛾在一天中的不同时间诱蛾的数量不相同, 诱蛾数量高峰在 8:00 – 10:00, 诱蛾量占日诱蛾量的 68.29%, 说明蜀柏毒蛾的求偶行为主要发生在 8:00 – 10:00, 这与雌蛾性信息素的释放节律一致。

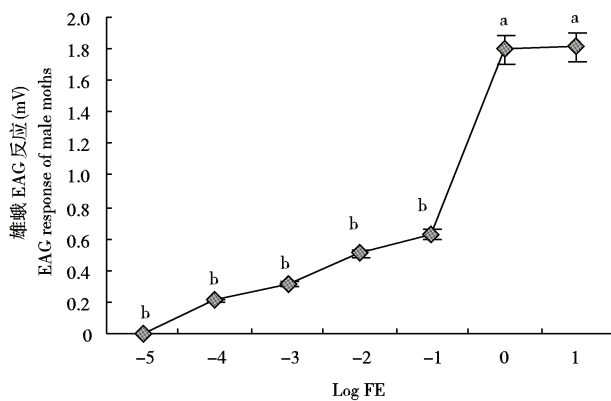


图5 蜀柏毒蛾雄蛾对不同浓度雌蛾性信息素的 EAG 反应
Fig. 5 EAG response of male *Parocneria orientalis* to female pheromone at different concentrations
FE: 雌当量 Female equivalent.

表3 不同日龄5头蜀柏毒蛾处女雌蛾引诱雄蛾数量
Table 3 Number of male moths of *Parocneria orientalis* trapped each by 5 virgin females at different age in the fields

日龄 Day-old	有雌蛾 With females	无雌蛾 Without females
1	7.28 ± 0.52 Bb	0
2	9.35 ± 1.12 Aa	0
3	6.15 ± 1.02 Bc	0
4	3.25 ± 0.48 Cd	0
5	0.95 ± 0.45 De	0
6	0 Ee	0

表4 5头蜀柏毒蛾2日龄处女雌蛾在一天中不同时间引诱雄蛾数量比较
Table 4 Comparison of male moths of *Parocneria orientalis* trapped each by 5 2-day-old virgin females at different time of the day in the fields

时间 Time	有雌蛾 With females	无雌蛾 Without females
5:01 - 6:00	0 Ee	0
6:01 - 7:00	0 Ee	0
7:01 - 8:00	2.28 ± 1.45 Cc	0
8:01 - 9:00	9.75 ± 2.14 Aa	0
9:01 - 10:00	8.94 ± 1.25 Aa	0
10:01 - 11:00	4.35 ± 0.73 Bb	0
11:01 - 12:00	1.48 ± 0.37 Cc	0
12:01 - 13:00	0.57 ± 0.26 Dd	0
13:01 - 14:00	0 Ee	0

3 讨论

在鳞翅目昆虫中,雌蛾性信息素的产生与释放和求偶行为是一致的,即两者具有协同性,这种协同性在 *Pseudaltia ymipumcta* Haw (Delisle and McNeil, 1987)、枣镰翅小卷蛾 *Ancylis sativa* Liu (韩桂彪等, 1999) 和小地老虎 *Agrotis ypsilon* Rottemberg (Xiang et al., 2010) 等昆虫中得到证实。本试验结果表明,蜀柏毒蛾雌蛾的求偶行为及性信息素的产生与释放都具有明显的动态节律,而且两者的高峰期基本吻合,均出现在光期前期,即 8:30 左右,由此可见蜀柏毒蛾雌蛾性信息素的产生和求偶行为间也存在协同性。这种一致性并非偶然,而是具有一定的生物学意义。Haynes 等(1983)和 Pope 等(1984)对于昆虫的性行为 and 性信息素产生与释放的生理学研究证实,许多昆虫羽化、交尾和性信息素产生与释放均存在一致性,这些生理行为是由环境和生理因子通过内分泌系统进行控制的。

鳞翅目昆虫的求偶交配和性信息素的释放都是有一定的时辰节律的,如舞毒蛾 *Lymantria dispar* (Giebutowicz et al., 1991)、枣镰翅小卷蛾 *Ancylis sativa* Liu (韩桂彪等, 1999)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (董双林和杜家伟, 2002)、沙棘木蠹蛾 *Holcocerus hippophaecolus* (路常宽等, 2004)、豆野螟 *Maruca vitrata* (Fabricius) (陆鹏飞等, 2007)、榆木蠹蛾 *H. vicarius* (Walker) (杨美红等, 2010) 等昆虫的求偶、交配行为也是仅出现在一天中的某一时段,蜀柏毒蛾的求偶交配和性信息素的释放也存在明显的时辰节律,但与多数鳞翅目昆虫不同,蜀柏毒蛾的求偶交配行为发生在光期 7:30 - 11:00,交配高峰期在 8:30 左右。造成蜀柏毒蛾性行为节律的这种特殊性的原因还有待进一步研究。

从雄蛾对雌蛾腺体粗提物的 EAG 反应和野外诱蛾试验可以看出,蜀柏毒蛾羽化当天就具有求偶和交配行为,2 日龄处女雌蛾体内性信息素含量最高,林间诱蛾量显著大于其他日龄,说明雌蛾的性信息素的释放和求偶行为受日龄的影响 (Webster and Carde, 1982),2 日龄雌蛾性信息素腺体发育成熟,随后性信息素的分泌能力又下降,这与荆小园等 (2010) 对沙柳木蠹蛾 *Holcocerus arenicola* Staudinger 及杨美红等 (2010) 对榆木蠹蛾 *H. vicarius* (Walker) 的研究结果是一致的。

不同日龄的蜀柏毒蛾交尾行为也存在较大差

异,随着虫龄的增加,其召唤时间逐渐提前和延长,这与许多鳞翅目昆虫的求偶行为相似(Delisle, 1992; Edmonds *et al.*, 2000; 杨美红等, 2010),是老龄处女雌蛾提高与幼龄处女雌蛾的交配竞争力的策略(Swier *et al.*, 1997)。蜀柏毒蛾交尾持续时间随日龄增加逐渐增长,特别是高日龄的成虫交尾持续时间极显著长于低日龄的,因为较高日龄成虫的交尾成功率较低,通过增加交尾的持续时间可以提高交配成功率。这与 Delisle (1995) 对蔷薇斜条卷叶蛾 *Choristoneura rosaceana* 研究的结果一致。本试验中,雄蛾有多次交配能力,未见雌蛾二次交尾现象,这可能是交配后雌蛾腺体中性信息素的产生受到永久性抑制,其求偶和交配能力将不再恢复(Giebultowicz *et al.*, 1991; 董双林和杜家纬, 2002); 现有的研究表明,在交配过程中,雄蛾将来源于性附腺等组织的交配因子(为肽类化合物)传输给雌蛾,并在雌蛾体内进一步作用,抑制了雌蛾性信息素的产生。蜀柏毒蛾交配中,雄蛾是否以此抑制雌蛾再交配有待进一步证实。

蜀柏毒蛾生殖行为及其性信息素的产生与释放节律是昆虫繁殖行为的重要内容,也是利用性信息素开展蜀柏毒蛾种群监测和防治的理论基础,本试验研究结果可为开展蜀柏毒蛾性信息的鉴定和合成,及其在种群监测和治理中的应用研究提供实验基础和依据。

参考文献 (References)

- Delisle J, 1992. Age related changes in the calling behavior and the attractiveness of obliquebanded leafroller virgin females, *Choristoneura rosaceana*, under different constant and fluctuating temperature conditions. *Entomol. Exp. Appl.*, 63: 55–62.
- Delisle J, 1995. Effect of male and female age on the mating success of the oblique banded leafroller, *Choristoneura rosaceana*, (Lepidoptera: Tortricidae) under different ecological conditions. *J. Insect Behav.*, 8: 781–799.
- Delisle J, McNeil JN, 1987. Calling behavior and pheromone titer of the true armyworm *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) (Lepidoptera: Noctuidae) under different temperature and photoperiodic conditions. *J. Insect Physiol.*, 33: 315–324.
- Dong SL, Du JW, 2002. Effects of mating experience and temperature on sex pheromone production of beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 13(12): 1633–1636. [董双林, 杜家纬, 2002. 交配和温度对甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)雌蛾性信息素产生的影响. 应用生态学报, 13(12): 1633–1636]
- Edmonds RP, Borden JH, Angerilli NDP, Rauf A, 2000. A comparison of the development and reproductive biology of tow soybean pod borers, *Etiella* spp. in Indonesia. *Entomol. Exp. Appl.*, 97: 137–147.
- Feng B, Zhou JH, Guo HX, Liu YG, Xiao YG, 2009. Identification of pathogenic strain of no-sporeforming to *Parocneria orientis* and its toxicity. *Scientia Silvae Sinicae*, 45(11): 104–108. [冯波, 周建华, 郭亨孝, 刘应高, 肖育贵, 2009. 一株蜀柏毒蛾无芽孢杆菌病原的鉴定与毒力研究. 林业科学, 45(11): 104–108]
- Giebultowicz JM, Raina AK, Uebel EC, Ridgway RL, 1991. Two-step regulation of sex pheromone decline in the mated gypsy moth females. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 16: 95–105.
- Han GP, Du JW, Hu C, Li LC, 1999. Effects of environment temperature and photoperiodic changes on calling behavior and sex pheromone release in *Ancylis sativa* Liu. *Scientia Silvae Sinicae*, 35(2): 75–81. [韩桂彪, 杜家纬, 胡萃, 李连昌, 1999. 环境温度和光周期对枣粘翅小卷蛾求偶活动及性信息素释放的影响. 林业科学, 35(2): 75–81]
- Han GP, Du JW, Li J, 2000. Mating behavioral ecology of *Ancylis sativa* adult. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 11(2): 99–102. [韩桂彪, 杜家纬, 李捷, 2000. 枣粘虫交配行为生态学研究. 应用生态学报, 11(2): 99–102]
- Haynes KF, 1983. Rate and periodicity of pheromone release from individual female artichoke plume moths, *Platyptilia carduidactyla* (Lepidoptera: Pterophoridae). *Environ. Entomol.*, 12: 1597–1600.
- He L, 1998. Bionomics of *Parocneria orientis* Chao and its control. *Entomological Knowledge*, 35(2): 90–93. [何礼, 1998. 蜀柏毒蛾生物学特性及防治. 昆虫知识, 35(2): 90–93]
- Jing XY, Zhang JT, Luo YQ, Liu PH, Zong SX, Liu JL, Yang MH, 2010. Circadian rhythms of sexual behavior and pheromone titers of *Holcocerus arenicola* (Lepidoptera: Cossidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(3): 307–313. [荆小院, 张金桐, 骆有庆, 柳培华, 宗世祥, 刘金龙, 杨美红, 2010. 沙柳木蠹蛾性行为及其性信息素滴度的动态节律. 昆虫学报, 53(3): 307–313]
- Lan L, Chen B, Wu BL, 2009. The damage situation of *Parocneria orientis* Chao at Jintang and its control methods. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 30(6): 118–120. [兰林, 陈彬, 伍炳礼, 2009. 金堂县蜀柏毒蛾危害现状及防治对策. 四川林业科技, 30(6): 118–120]
- Lu CK, Zong SX, Luo YQ, Xu ZC, Ma CD, Zhao HY, 2004. Adult behaviors and sex attraction of *Holcocerus hippophaecolus* (Lepidoptera: Cossidae). *Journal of Beijing Forestry University*, 26(2): 79–83. [路常宽, 宗世祥, 骆有庆, 许志春, 马超德, 赵怀玉, 2004. 沙棘木蠹蛾成虫行为学特征及性诱效果研究. 北京林业大学学报, 26(2): 79–83]
- Lu PF, Qiao HL, Wang XP, Zhou XM, Wang XQ, Lei CL, 2007. Adult behavior and circadian rhythm of sex pheromone production and release of the legume pod borer, *Maruca vitrata* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*, 50(4): 335–342. [陆鹏飞, 乔海莉, 王小平, 周兴苗, 汪细桥, 雷朝亮, 2007. 豆野螟成虫行为学特征及性信息素产生与释放节律. 昆虫学报, 50(4): 335–342]
- Pope MM, Gaston LK, Baker TC, 1984. Composition, quantification,

- and periodicity of sex pheromone volatiles from individual *Heliothis zea* females. *J. Insect Physiol.*, 30: 943–945.
- Swier SR, Rings RW, Musick GJ, 1997. Age related calling behavior of the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 70: 919–924.
- Webster RP, Carde RT, 1982. Relationships among pheromone titre, calling and age in the omnivorous leafroller moth *Platynota stultana*. *J. Insect Physiol.*, 28: 925–933.
- Wen L, Zhou JH, Guo HX, Liu YG, 2009. Study on additives of VBL, chlorbenzuron, trichlorphon on *Parocneria orienta* NPV. *Forest Research*, 22(6): 878–882. [文亮, 周建华, 郭亨孝, 刘应高, 2009. 几种对蜀柏毒蛾核型多角体病毒增效的添加剂研究. 林业科学研究, 22(6): 878–882]
- Wen XJ, Blanka K, Liu MG, Michal H, 2009. Candidate sex pheromone components of persimmon bark borer, *Euzophera batangensis*. *Scientia Silvae Sinicae*, 45(12): 83–88. [温秀军, Blanka K, 刘满光, Michal H, 2009. 皮暗斑螟性信息素研究. 林业科学, 45(12): 83–88]
- Xiang YY, Yang MF, Li ZZ, 2010. Calling behavior and rhythms of sex pheromone production in the black cutworm moth in China. *J. Insect Behav.*, 23: 35–44.
- Yang MH, Zhang JT, Liu JL, Jing XY, Luo YQ, Zong SX, Cao CJ, Li YH, 2010. Reproductive behavior and circadian rhythm of sex pheromone production and release of *Holcocerus vicarius* (Walker) (Lepidoptera: Cossidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(11): 1273–1280. [杨美红, 张金桐, 刘金龙, 荆小院, 骆有庆, 宗世祥, 曹川健, 李月华, 2010. 榆木蠹蛾生殖行为及性信息素产生与释放节律. 昆虫学报, 53(11): 1273–1280]

(责任编辑: 袁德成)